



DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK  
AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

# PATENTCHRIFT 148 889

Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 29 Absatz 1 des Patentgesetzes

(11)	148 889	(45)	17.06.81	Int. Cl. <sup>3</sup> 3(51) C 12 N 1/16
(21)	WP C 12 n / 180 594	(22)	19.08.74	

---

(71)	Forschungsinstitut für die Gärungsindustrie, Enzymologie und Technische Mikrobiologie, Berlin, DD
(72)	Nordheim, Willy, Dr.habil. Dipl.-Ing.; Schultze, Maria, Dr. Dipl.-Chem.; Dickscheit, Rudolf, Prof. Dr. Dipl.-Ing.; Müller, Gerda; Heinrich, Mechthild, Dipl.-Biol.; Pankalla, Marion, Dipl.-Biol.; Gebhardt, Gisela, DD
(73)	Forschungsinstitut für die Gärungsindustrie, Enzymologie und Technische Mikrobiologie, Berlin, DD
(74)	Dipl.-Chem.; Brigitte Thomas, Forschungsinstitut für die Gärungsindustrie, Enzymologie und Technische Mikrobiologie, 1017 Berlin, Alt-Stralau 62

---

(54) Verfahren zur Herstellung eiweißreicher Hefen

---

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von eiweißreichen Hefen.

Es ist bekannt, daß Pflanzenhormone, wie z. B. Kinetin, Wachstum und Differenzierung der Pflanzen beeinflussen. Sie scheinen in die Regulation der genetischen Information einzugreifen. Ihr genauer Wirkungsmechanismus ist nicht bekannt.

Über die Wirkung von Kinetin auf Mikroorganismen ist lediglich ein wachstumsstimulierender Effekt bei Bakterien bekannt. Über den Einfluß auf die Eiweißsynthese von Hefezellen liegen keine Hinweise vor.

Bei der mikrobiellen Eiweißsynthese, z. B. der Futterhefeproduktion, besteht die Forderung, die Biomasseherstellung über eine Ausbeuteerhöhung oder über eine Steigerung des zellulären Eiweißgehaltes zu ökonomisieren.

Die bisher bei der Futter- bzw. Nährhefeherstellung eingeschlagenen Wege zur Erhöhung des Eiweißgehaltes führten nicht zu den gewünschten Erfolgen.

Zweck der Erfindung ist es, die Eiweißsynthese von Hefen zu stimulieren, um so den Eiweißgehalt der Zellen zu erhöhen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die gewünschte Steigerung durch Zusatz eines für Mensch und Tier toxikologisch unbedenklichen Agens zum Züchtungsmedium zu erreichen.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, daß Cytokinine, insbesondere Kinetin, oder Substanzen mit cytokininähnlichen Effekten, wie beispielsweise DNS-RNS-Hydrolysate, in geringen Konzentrationen dem Fermentationsmedium zugesetzt, den Eiweißgehalt von Hefezellen bedeutend erhöhen. Dabei entsprachen die Fermentationsbedingungen den üblichen, die für C- und N-haltige Medien bei aerober Fermentation beschrieben sind.

Es werden Hefen der Gattungen *Saccharomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* eingesetzt.

Die Erfindung soll an folgenden Beispielen näher erläutert werden.

#### Beispiel 1

Für die Fermentation wird folgendes Substrat verwendet:  
20 g Glucose; 4,2 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,7 ml  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (85%ig); 0,25 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ; mit Leitungswasser ad 1 l. Der Kaliumbedarf der sich vermehrenden Zellen ist durch den separaten Zulauf von Kalilauge gewährleistet, die der pH-Statierung dient. Kinetin wird in Mengen zwischen  $10^{-4}$  bis  $10^{-10}$  g/l Nährlösung zugesetzt.

Die Nährlösung läuft einer kontinuierlich arbeitenden Fermentationsapparatur zu, in der optimal belüftet wird. Die Verweilzeit beträgt 4 bis 5 Stunden, der pH-Wert liegt bei 4,5. Die Temperatur wird auf 28 bis 30 °C gehalten. Zur Fermentation wird Wuchshefe (*Candida utilis*) eingesetzt. Der Ablauf aus der Fermentationsapparatur wird separiert. Die anfallende Hefe wird getrocknet (Futterhefe). Das Filtrat wird zur Bereitung des nachfolgenden Substrats zurückgeführt.

Folgende Werte wurden erhalten:

Kinetin (g/l)	Rohprotein (% der HTS)	Reinprotein (% der HTS)
---	50,5	34,0
10 <sup>-4</sup>	54,3	41,5
10 <sup>-6</sup>	55,6	39,8
10 <sup>-8</sup>	56,6	40,1
10 <sup>-10</sup>	57,7	42,1

#### Beispiel 2

Es wird wie unter Beispiel 1 verfahren. Die nach der Separation anfallende Hefe wird jedoch direkt zur Isolierung von Protein (für die menschliche Ernährung) verwendet.

#### Beispiel 3

Zellen von *Sacch. cerevisiae* werden bei 30 °C kontinuierlich, steril, unter aeroben Bedingungen bei pH 4,5 und einer Verweilzeit von 5 - 8 Stunden gezüchtet. Das Medium enthält 30 g Glucose; 6,4 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,7 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (85%ig); 0,5 g MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O; 1 g CaCl<sub>2</sub>; 1 g NaCl; 0,5 mg Thiaminhydrochlorid; 0,2 mg Riboflavin; 0,2 mg Pyridoxinhydrochlorid; 0,3 mg Pantothanol; 2 mg Nikotinamid; 2 mg Inosit; 2 µg Biotin und Spurenelemente (A - Z-Lösung) pro Liter aqua dest.

Dem Züchtungsmedium werden 5 · 10<sup>-3</sup> - 10<sup>-10</sup> g Kinetin/l Lösung zugesetzt. - Die pH-Konstanz wird durch automatische Dosierung von KOH gewährleistet.

Bei 10<sup>-3</sup> g Kinetinzusatz konnte ein um 22 % erhöhter Roh- und Reinproteinwert gemessen werden.

Erfindungsansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung eiweißreicher Hefen, dadurch gekennzeichnet,  
daß bei der Züchtung nach bekannten Verfahren dem C- und N-haltigen Zuchtungsmedium Cytokinine oder cytokininähnliche Substanzen, insbesondere Kinetin, zugesetzt werden.
2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß Hefen der Gattungen Saccharomyces, Pichia, Hansenula, Candida, Torulopsis oder Rhodotorula eingesetzt werden.
3. Verfahren nach Punkt 1 und 2, dadurch gekennzeichnet,  
daß Kinetin in Konzentrationen von  $10^{-2}$  bis  $10^{-10}$  eingesetzt wird.
4. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß als Cytokinin und als Substanzen mit cytokininähnlicher Wirkung beispielsweise DNS-RNS-Hydrolysate eingesetzt werden können.